

Note technique

Remplacement de l'agar-agar par un gélifiant à base de carraghénate pour la confection de milieux nutritifs destinés à l'élevage des larves de Lépidoptères

M. Giret et R. Couilloud

Laboratoire d'Élevage et de Nutrition d'Insectes.
C.I.R.A.D., B.P. 5035, 34032 Montpellier Cedex.

MOTS CLES : milieu nutritif, Lépidoptères, agar-agar, carraghénate

INTRODUCTION

La gélification des milieux nutritifs artificiels permettant l'élevage des larves d'insectes, notamment des chenilles de Lépidoptères, est habituellement réalisée avec un extrait d'algue, l'agar-agar, dont la température de gélification relativement basse permet l'introduction, sans altération, de différentes substances comme les vitamines : cette caractéristique alliée à la facilité d'emploi de cet extrait et à sa neutralité nutritionnelle en fait un gélifiant de grand intérêt en laboratoire, notamment en bactériologie.

Cependant, le prix de revient de plus en plus élevé de l'agar-agar revêt une importance non négligeable dans le cas d'élevage massif d'insectes. Afin de réaliser des économies, différents auteurs ont étudié le remplacement de l'agar-agar :

— par un mélange de sciure de bois, de farine de blé et de pâte à papier dans le cas d'un élevage de *Carpocapsa pomonella*, Lép. Olethreutidae (BRINTON et coll., 1969) ;

— par un gel d'alginate de calcium dans le cas d'un élevage de *Spodoptera littoralis*, Lép. Noctuidae (MOORE et NAVON, 1969) et de *C. pomonella* (NAVON et MOORE, 1971) ;

— par du sarrasin, du pois mungo ou du gland de chêne dans le cas d'un élevage de *Bombyx mori*, Lép. Bombycidae (SEOL et coll., 1977).

Nous avons, dans le cas de nos élevages, testé, en substitution à l'agar-agar, deux produits commercialisés à base de carraghénate.

MILIEUX NUTRITIFS UTILISÉS ET ESPÈCES ÉLEVÉES

Pour *Heliothis armigera* (Lép. Noctuidae) et *S. littoralis*, la composition du milieu nutritif utilisé est la suivante :

eau	: 1 600	cc
gélifiant	: 26	g d'agar-agar
acide sorbique	: 2,4	g
acide ascorbique	: 20	g
maïs broyé	: 230	g
germe de blé	: 60	g
levure de bière	: 60	g
huile de maïs	: 2	cc

Pour *Cryptophlebia leucotreta* (Lép. Tortricidae) et *Pectinophora gossypiella* (Lép. Gelechiidae), le milieu décrit ci-dessus est enrichi avec :

méthyle hydroxy-4 benzoate	: 2	g
(Nipagine)		
sels minéraux	: 16	g ⁽¹⁾
complexe vitaminé	: 16	g ⁽²⁾
antibiotique	: 1	g comprimé de « Bac-trim » ⁽³⁾

Les 26 g d'agar-agar utilisés dans ces milieux de référence ont été remplacés par :

— soit 60 g de carraghénate, extrait d'algues rouges (Rhodophyceae), commercialisé sous le nom de « Lian-gel »⁽⁴⁾,

— soit 45 g de carraghénate associé à de la gomme d'acacia, commercialisé sous le nom de « Fructogel »⁽⁴⁾.

Les deux gélifiants de substitution testés sont préalablement délayés avec une fraction de l'eau jusqu'à obtention d'un liquide épais.

L'acide ascorbique et éventuellement le complexe vitaminé et l'antibiotique sont dissous à froid.

L'eau restante, la solution de gélifiant, l'acide sorbique, l'huile de maïs et éventuellement la nipagine sont portés à ébullition sous agitateur. Signalons que dans le cas de l'utilisation du « Lian-gel », le mélange s'épaissit entre 50 °C et 60 °C mais redevient fluide lorsque la température s'élève.

Après ébullition, cette solution est refroidie à 70 °C et sont alors ajoutés, toujours sous agitation, la solution froide puis les constituants restants (maïs broyé, germe de blé, levure de bière et éventuellement sels minéraux), préalablement mélangés entre eux.

L'ensemble, mélangé le plus rapidement possible, est versé dans des récipients placés sur de la glace. Cette technique a été retenue pour accélérer la gélification qui a lieu vers 50 °C, les températures supérieures pouvant altérer certains constituants.

⁽¹⁾ Salt mixture Wesson modification (United States Biochemical Corporation).

⁽²⁾ Total vitamin supplement (United States Biochemical Corporation).

⁽³⁾ « Bac-trim » : Roche, comprimé dosé à 400 mg de sulfaméthoxazol et 80 mg de triméthoprime.

⁽⁴⁾ « Lian-gel » et « Fructogel » : Soc. IRANEX France S.A., 4, rue Frédéric-Passy, 92205 Neuilly-sur-Seine.

RÉSULTATS

Les milieux nutritifs gélifiés à base de carraghénate ont été utilisés pour les élevages de production des espèces suivantes :

- *H. armigera*,
- *S. littoralis*,
- *C. leucotreta*,

ou pour des mises au point d'élevage dans le cas des deux espèces :

- *P. gossypiella*,
- *Hypsipyla robusta* (Lép. Pyralidae).

H. armigera : la production de chrysalides de cette espèce nécessaire aux études sur les entomophages est assurée une fois par an (GIRET, Cot. Fib. trop., 1981, 2). En 1985, une production de plus de 16 000 chrysalides a été réalisée à partir d'un élevage conduit sur milieu à base de « Fructogel ». Parallèlement, le milieu à base de « Liangel » a été testé sur cette espèce au cours d'une génération.

S. littoralis : six générations successives sur milieu à base de « Fructogel », suivies de six générations sur milieu à base de « Liangel » ont été réalisées.

C. leucotreta : dix générations successives sur milieu à base de « Fructogel » et six générations sur milieu à base de « Liangel » ont été réalisées.

P. gossypiella : la mise au point de l'élevage de cette espèce se fait actuellement sur milieu à base de « Fructogel » sans que des différences apparaissent avec les essais

dans lesquels l'agar-agar est utilisé. Sept générations successives ont ainsi été obtenues en utilisant le « Fructogel ».

H. robusta : dans le cas de cette espèce, les deux gélifiants « Fructogel » et « Liangel », utilisés avec les deux milieux décrits ci-dessus, ont été testés, permettant chacun l'obtention d'une génération fertile.

Le remplacement de l'agar-agar par des gélifiants à base de carraghénate, notamment le « Fructogel », permet pour les espèces citées, le déroulement normal de l'élevage avec des résultats semblables à ceux obtenus dans le cas de l'agar-agar.

En ce qui concerne la fabrication des milieux nutritifs à base de carraghénate, celle-ci demande cependant, par rapport à l'agar-agar, l'adoption de précautions plus rigoureuses, en particulier le respect des températures des diverses opérations.

Les milieux nutritifs à base de carraghénate présentent des caractéristiques de conservation identiques à celles des milieux à base d'agar-agar.

Enfin, sur le plan financier, on peut estimer que l'utilisation de ces gélifiants commercialisés permet une économie de l'ordre de 20 % par rapport à l'agar-agar alimentaire et du double par rapport à l'agar-agar employé en bactériologie.

Signalons l'utilisation annexe des sous-produits d'élevage, dans le cas de milieu sans antibiotique, que nous avons réalisé dans le domaine de l'alimentation avicole.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. BRINTON, F.E. ; PROVERBS, M.D. ; CARTY, B.E., 1969. — Artificial diet for mass production of the codling moth, *Carpocapsa pomonella* (Lepidoptera : Olethreutidae). *Can. Ent.*, 101, 577-584.
2. GIRET, M. — Sélection de lignées à taux et durées de diapause différents chez *Heliothis armigera* (Lép. Noctuidae), souche d'origine tropicale, élevée à 25 °C et 12 heures d'éclaircissement. *Cot. Fib. trop.*, 1986, 1.
3. MOORE, I. ; NAVON, A., 1969. — Calcium alginate : a new approach in the artificial culturing of insects, applied to *Spodoptera littoralis* (Boisduval). *Experientia*, 25/2, 221-222.
4. NAVON, A. ; MOORE, I., 1971. — Artificial rearing of the codling moth (*Carpocapsa pomonella* L.) on calcium alginate gels. *Entomophaga*, 16, 4, 381-387.
5. SEOL, K.Y. ; LEE, S.P. ; LEE, J.C., 1977. — Studies on artificial diet composition. 1. Substitution of agar by buckwheat, mungbean and acorn. *Res. Rep. Off. Rur. Develop. Vet. Seric.*, S. Korea, 19, 61-65.

Technical note

Substitution of agar-agar by a carraghénate based gel to make nutrient mediums for the rearing of Lepidoptera larvae

M. Giret and R. Couilloud

KEY WORDS : nutrient medium, lepidoptera, agar-agar, carraghénate

INTRODUCTION

The artificial nutrient mediums allowing insect and especially Lepidoptera larvae to be reared are usually gelled with an alga extract known as agar-agar whose relatively low gelling temperature allows various substances such as vitamins to be introduced without any alteration ; thanks to this characteristic and to its easy use and nutritional neutrality, agar-agar is a most useful gel in the laboratory, especially for bacterial studies.

However, the increasingly high cost price of agar-agar takes on a non-negligible importance in the case of insect

mass rearing. Various authors therefore studied the substitution of agar-agar by :

- a mixture of sawdust, wheat flour and paper pulp to rear *Carpocapsa pomonella* (Lep. Olethreutidae) (BRINTON *et al.*, 1969) ;
- a gel of calcium alginate to rear *Spodoptera littoralis* (Lep. Noctuidae) (NAVON and MOORE, 1971) ;
- buckwheat, mungbean and acorn to rear *Bombyx mori* (Lep. Bombycidae) (SEOL *et al.*, 1977).

As far as we are concerned, we tested two commercial carraghénate based products.

NUTRIENT MEDIUMS USED AND SPECIES REARED

The nutrient medium used to rear *Heliothis armigera* (Lep. Noctuidae) was made up as follows :

water	: 1,600	cc
gel	: 26	g agar-agar
sorbic acid	: 2.4	g
ascorbic acid	: 20	g
ground maize	: 230	g
wheat germ	: 60	g
yeast	: 60	g
maize oil	: 2	cc

For *Cryptophlebia leucotreta* (Lep. Tortricidae) and *Pectinophora gossypiella* (Lep. Gelechiidae), the medium described above was enriched with :

methyl hydroxy-4 benzoate	: 2	g
(Nipagine)		
mineral salts	: 16	g ⁽¹⁾
total vitamin supplement	: 16	g ⁽²⁾
antibiotic	: 1	tablet of « Bactrim » ⁽³⁾

The 26 g of agar-agar used in the reference mediums were replaced by :

- either 60 g of carraghenate, extracted from red algae

(Rhodophyceae) and marketed under the name of « Liangel »⁽⁴⁾ ;

— or 45 g of carraghenate associated with acacia gum, marketed under the name of « Fructogel »⁽⁴⁾.

Both substituting gels were previously mixed with some of the water until a thick liquid was obtained.

The ascorbic acid, the vitamins and the antibiotic were cold dissolved.

The remaining water, gel-solution, sorbic acid, maize oil and nipagine were brought to the boil under agitation. It should be mentioned that with « Liangel » the mixture gets thicker between 50 and 60 °C but becomes fluid again when the temperature rises.

After boiling, this solution was cooled at 70 °C. Still under agitation, the cold solution and remaining components (ground maize, wheat germ, yeast and mineral salts) were first intermixed then added.

This solution, mixed as quick as possible, was poured into containers placed on ice. This technique was selected to speed up gelling which occurs at around 50 °C, as higher temperatures can alter some components.

RESULTS

Carraghenate based mediums were used to rear the following species :

- *H. armigera*,
- *S. littoralis*,
- *C. leucotreta*,

or to finalize the rearing of two species :

- *P. gossypiella*,
- *Hypsipyla robusta* (Lep. Pyralidae).

H. armigera : the production of chrysalises of this species necessary to study entomophagous insects is carried out once a year (GIRET, Cot. Fib. trop., 1986, 1). In 1985, more than 16,000 chrysalises were produced with a « Fructogel » based medium. The « Liangel » based medium was tested at the same time over one generation.

S. littoralis : six successive generations on a « Fructogel » based medium followed by six generations on a « Liangel » based medium were carried out.

C. leucotreta : ten successive generations on a « Fructogel » based medium and six generations on a « Liangel » based medium were carried out.

P. gossypiella : the rearing of this species is being finalized on a « Fructogel » based medium and differences with

the tests using agar-agar do not appear. Seven successive generations were thus obtained with « Fructogel ».

H. robusta : « Fructogel » and « Liangel » were both tested with the two mediums described above, allowing a fertile generation to be obtained.

For the species mentioned, the substitution of agar-agar by carraghenate based gels, and especially « Fructogel », allows the rearing to develop normally, with results similar to those obtained with agar-agar. As compared with agar-agar however, the making of carraghenate-based nutrient mediums requires more rigorous precautions be taken, especially the respect of the temperatures of the different operations.

Carraghenate-based nutrient mediums have the same characteristics of conservation as agar-agar based mediums.

Finally, from the financial standpoint, it can be estimated that using these marketed gels saves 20 % as compared to food agar-agar and 40 % as compared to the agar-agar used in bacteriology. It should be mentioned that we used rearing by-products, in the case of mediums without antibiotic, for poultry feeding purposes.

⁽¹⁾ Salt mixture Wesson modification (United States Biochemical Corporation).

⁽²⁾ Total Vitamin Supplement (United States Biochemical Corporation).

⁽³⁾ « Bactrim » : Roche, tablet measured out at 400 mg sulfamethoxazol and 80 mg trimethoprim.

⁽⁴⁾ « Liangel » and « Fructogel » : Soc. IRANEX France S.A., 4, rue Frédéric-Passy, 92295 Neuilly-sur-Seine.